

La investigación médica en el Instituto de Química

Por el Excmo. Sr. Doctor
D. MANUEL LORA TAMAYO

Académico de
Número

Discurso leído en la solemne sesión inaugura] del Curso 1962-63

La primera condición exigible al que ha de mandar en una empresa cualquiera, es la de haber sabido obedecer en cada momento. Hace ya casi un año, que recibí del director de esta Real Academia el encargo, que para mí fue orden, de hacer el discurso inaugural de este curso. Mis circunstancias de ocupación, no así de servicio, han variado no poco de entonces a hoy. Mi concepto de la obediencia continúa siendo el mismo. Por ello, estoy ante vosotros en calidad de académico, encomendando a vuestra bondad la suplencia de lo que, por los azares del trabajo diario, y aún por su propia naturaleza, tenga de defectuosa esta lectura inaugural.

Un Instituto de investigaciones nace en una Universidad de integral vida académica o se crea, a extramuros de ella, bien porque al no sintonizar docencia e investigación en personas y medios, faltan clima y estímulo, bien porque el campo de actividades que acota puede, en sus objetivos o en su desarrollo, no encontrar adecuación conveniente a la función docente de la Universidad.

El Instituto de Química nació en Madrid, junto al de Física, en 1931, bajo los auspicios de la Fundación Rockefeller, como una extensión, individualizada ya, de los antiguos laboratorios de la Junta para Ampliación de Estudios, creados fuera de la Universidad, en una época en que la atonía de ésta impedía la necesaria superación académica. Cultivó la Físico-Química y la Química Orgánica; posteriormente, el Consejo Superior de Investigaciones Científicas hubo de seguir con el pie forzado de aquellos Institutos extra universitarios; y en la división de actividades investigadoras que fue, sucesivamente, estudiándose, quedó definido aquél como un específico Instituto de Química Orgánica.

La diferencia esencial entre un Instituto universitario y otro que no tenga esta condición genuina, ha de estar en la libre iniciativa de objetivos de aquél, en contraste con el carácter, más o menos dirigido, de su temática, que ha de primar en éste, aunque dio no implique, en ningún caso, signo peyorativo alguno que reduzca la importancia y alcance del trabajo. Refiriendo al caso nuestro estos conceptos generales, que admiten, sin embargo, diferenciaciones y matices, el Instituto de Química, nacido fuera de la Universidad, vivió desde su origen en clima netamente universitario en métodos y temas, y así hubo de continuar al reorganizarse con nosotros en el área específicamente orgánica que definíamos antes.

Pero la inquietud por una mayor eficacia, originada sin duda, en la diferenciación de corrientes científicas dentro del vasto campo de la Química Orgánica y en la ordenación de una investigación potencialmente aplicable al mejor servicio nacional, nos llevaron pronto a orientar direcciones de trabajo con formación de equipos especializados en el dominio de las macromoléculas y en el de las enzimas y sus procesos, creándose así, junto al Departamento de Química Orgánica, en cabeza de esta genealogía, los Departamentos de Plásticos y de Fermentaciones Industriales, que se desarrollan hoy con personalidad y vitalidad propias.

Aquel Departamento viene cultivando, desde su principio, nuevos métodos de síntesis, el estudio de los mecanismos de sus reacciones, y el aislamiento y caracterización de productos naturales y, en los últimos años, además, una bioquímica de raíz netamente orgánica. Pero este orden de investigaciones admitía aún, a nuestro parecer general sobre la ordenación del Instituto, una

nueva posible dirección que, dentro de la misma metodología de trabajo, había de servir a nuevos objetivos de potencial utilidad. Con este criterio, se han iniciado las investigaciones en Química Médica, conjugándose en ellas los métodos de síntesis con los de aislamiento e identificación de productos naturales, los ensayos enzimológicos y las técnicas de índole biológica, en el desarrollo de nuevas hipótesis y planes de revisión, que puedan conducir a nuevos remedios medicinales o nuevas fuentes de producción.

Sentados así los criterios que informaron esta orgánica de trabajo, es propósito nuestro resumir aquí los logros alcanzados en estas direcciones, como exposición necesaria de una realidad operante, y glosar después los requerimientos complementarios de una investigación en química médica y las posibilidades que nuestra potencialidad actual ofrece en exigencia de aprovechamiento.

Fuentes nacionales de esteroides

Pensando en la posibilidad, más o menos asequible, de implantar en España una industria químico-farmacéutica de obtención de distintos tipos de hormonas, emprendió Martín Panizo ⁽¹⁾ el estudio de algunos materiales nacionales, que, o son auténticos residuos, o no reciben el aprovechamiento adecuado, como fuentes posibles de esteroides.

Tal trabajo se inició con el aislamiento de esteroides de procedencia animal, ya de la grasa de la lana, ya de la bilis de cerdo, que han dado lugar a interesantes resultados, recogidos en varias publicaciones; pero se ha desplazado en los últimos años hacia los esteroides vegetales, y más concretamente las saponinas esteroídicas, a partir de las cuales, se preparan hoy hormonas muy utilizadas en medicina.

En esta línea ha realizado Panizo, con un grupo de colaboradores, una exploración de la flora española en busca de plantas, espontáneas o cultivadas, relativamente abundantes, que alcanzaron un contenido estimable en saponinas esteroídicas. Ello ha exigido ⁽²⁾ la puesta a punto de un método hemolítico, que permite la estimación rápida de aquéllas, fundado en el desarrollo de halos de hemólisis en placas de agar-sangre. El procedimiento se ha aplicado a más de 100 muestras, pertenecientes a 26 familias, incluyendo la mayoría de las Liliáceas, Dioscoreáceas, Amarilidáceas y Escrofulariáceas, habituales en nuestra agricultura o espontáneas en zonas extensas del país que, desde Marker y colaboradores ⁽³⁾ se conocían como poseedoras de este tipo de saponinas.

Sin embargo, el método descrito no permite diferenciar la naturaleza triterpénica o esteroídica de éstas, y para decidir sobre ello se estudiaron los espectros infrarrojo de las geninas resultantes de la hidrólisis ácida de aquéllas, siguiendo el procedimiento de Wall y colaboradores ⁽⁴⁾. Como consecuencia de estos trabajos, se han seleccionado 11 especies de las que posteriormente ⁽⁵⁾ se aislaron y caracterizaron las geninas correspondientes. Los resultados más interesantes se resumen en la Tabla 1.

De las especies anteriores destacan las tres de «Asparagus», por la proporción en saponinas, la acumulación de las geninas en una parte de la planta y su contenido en una sola de ellas; lo que evita laboriosos problemas de separación, si se intentan aprovechar estos productos a escala industrial. Naturalmente, se trata de plantas espontáneas, pero el área en que vegetan es bastante amplia; de modo que puede contarse, en potencia, con cantidades de sarsapogenina de cierta consideración.

TABLA I			
<i>Sapogeninas esteroídicas de plantas españolas,</i>			
ESPECIE	g/Kg. sobre producto seco	Sapogeninas	
« <i>Asparagns acutifolius</i> »:			
Hojas y tallos.....	0,1 — 0,2	Sarsasapogenina	
Rizomas.....	1,6 — 2,4	»	
« <i>A. stipularis</i> »:			
Hojas y tallos.....	0,1 — 0,2	»	
Rizomas.....	8,0 — 9,0	»	
« <i>A. albus</i> »:			
Hojas y tallos.....	0,2 — 0,3	»	
Rizomas.....	7,0 — 8,0	»	
« <i>Agave americana</i> » (Pita común)			
Hojas.....	1,7 — 2,6	Hecogenina	Pe

También el «*Agave americana*», (pita común), contiene prácticamente una sola sapogenina (Hecogenina), en cantidad menor, pero de estructura más favorable que la Sarsapogenina, para utilizarla como material de partida, (se emplea hoy por el grupo Glasso), en la síntesis de hormonas corticales. Abunda, semicultivada, en el Este y Sur de la Península, y en Canarias, donde se hace algún aprovechamiento de sus fibras; pero la calidad de éstas es inferior a las del «*Agave rigida*» (*A. sisalana*), por lo que se ha elegido para repoblar zonas áridas de aquellas regiones.

Si se toman como base los datos facilitados por el Servicio de Fibras Duras de Almería, el proyecto aprobado, y creemos que ya realizado casi en su totalidad, comprendía 5.000 Ha. en el S. E. y otras tantas en Canarias; y siendo la producción de hojas por Ha. y año, al alcanzar las plantas el desarrollo apropiado (8-,12 años), de 1 Tm/Ha., dispondremos, entre ambas zonas, de unas 10.000 toneladas métricas por año de material susceptible de aprovechamiento. Por otra parte, si únicamente se benefician las fibras, el rendimiento de las plantaciones no sobrepasaría las 200 pesetas por Ha/año.

Buscando, por ello, una revalorización de este material, el Instituto de Química realiza una investigación a fondo del contenido en sapogeninas de cada una de las variedades de «*A. rigida*», antes citadas, y su evolución con la edad de las plantas y otros factores, tratando de coordinar los mejores rendimientos en fibras y sapogeninas.

Los resultados obtenidos hasta ahora permiten las siguientes conclusiones: 1.^a) Dentro de cada variedad, la cantidad total de sapogeninas esteroídicas aumenta lentamente con la edad (de 3 a 9 años). 2.^a) En todo momento y en ambas zonas (S. E. Y Canarias), las tres variedades dan una mezcla de geninas carboxílicas y no carbonílicas. 3.a) En todos los casos, la fracción carbonílica es únicamente Hecogenina, mientras la no carbonílica es una mezcla distinta de una a otra variedad y en menor grado de una zona a otra, y 4.^a) Para plantas de la misma edad, el contenido total de sapogeninas esteroídicas varía poco con la época del año.

En la tabla II, se da un ejemplo de contenido total en sapogeninas esteroídicas de cada variedad de «*A. rigida*», en plantas de cuatro años de la zona S. E.:

TABLA II		
<i>Sapogeninas esteroídicas de las plantaciones del SE. de España.</i>		
VARIEDAD	Contenido total g/Kg.	OBSERVACIONES
Sisal.....	1,6 — 1,3	Recolección primavera
Henequen.....	1,3 — 1,5	» »
Zapupe.....	3 — 4	» invierno

Señalamos, por último, que también en las hojas de «*Chamaerops humilis*» (palmito), se ha encontrado y caracterizado por primera vez Diosgenina en cantidades superiores a 1,5 g/Kg.

Los resultados anteriores nos autorizan a establecer, como conclusión final, que disponemos en potencia de tres sapogeninas: Sarsasapogenina, Hecogenina y Diosgenina como punto de partida para iniciar la obtención de hormonas a escala reducida o de otros productos de posible interés farmacológico. En este sentido, se han dado los primeros pasos con la conversión de Sarsasapogenina en derivados de $\Delta^{16-5} \beta$ pregnen-3 β -ol-20-ona⁽⁶⁾, y se estudian en el momento presente otras transformaciones, con la intervención de hidroxilaciones microbiológicas, llevadas a cabo por el Departamento de Fermentaciones Industriales del Instituto, que pudieran conducir a estructuras afines a las de ciertas hormonas corticales.

Antituberculosos potenciales

La espectacular regresión de la tuberculosis, conseguida merced a la utilización de compuestos químicos, ha estimulado considerablemente la búsqueda de nuevas y mejores sustancias en los laboratorios de todo el mundo. A ello ha contribuido, además, y de modo muy decisivo, la aparición de fenómenos de resistencia, cuya atenuación no es general y que, cuando se presentan provocan regresiones de tipo muy virulento.

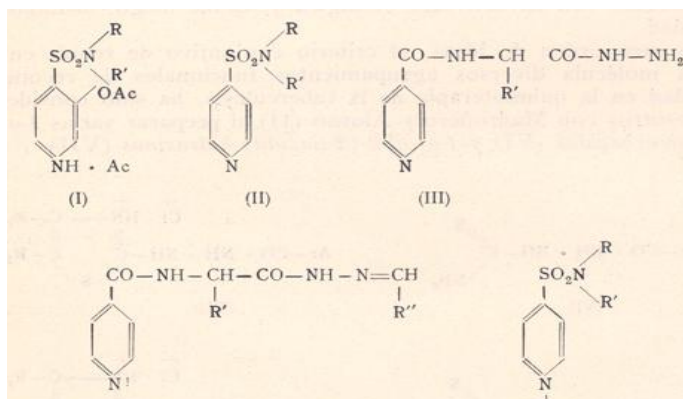
El Departamento de Química Orgánica del Instituto de Química, con la ayuda económica del Patronato Nacional Antituberculoso de la Dirección General de Sanidad, inició en 1958 un amplio programa de investigación encaminado hacia la búsqueda de nuevos agentes antituberculosos. A tal fin, polarizó sus esfuerzos en dos direcciones fundamentales:

a) La variación estructural de moléculas con actividad antituberculosa reconocida, buscando con ello, además de una acción mejor y más específica, contrarrestar tales efectos de resistencia; y

b) La creación de nuevas estructuras que, reuniendo diversos agrupamientos activos frente al *M. tuberculosis*, pudiesen resultar útiles en el control de dicha enfermedad.

Sin entrar en el detalle de lo hasta aquí conseguido, vale la pena indicar algunas de las etapas ya investigadas dentro de las dos directrices fundamentales anteriores.

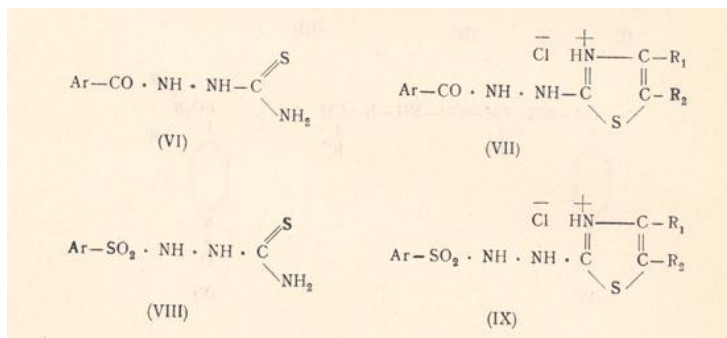
En primer lugar, con la colaboración de Martín Municio⁽⁷⁾, se prepararon 2- acetoxi-4-acetaminobencenosulfonamidas (I) y 2- hidroxi-4-acetaminobencenosulfonamidas, estructuralmente afines al PAS (ácido p-aminosalicílico), cuya actividad antituberculosa no necesita comentario. Referidos a este agente antituberculoso, los compuestos preparados marcan una tendencia que habrá de inspirar investigaciones futuras: la sustitución del grupo carboxilo (o del CO de derivados suyos) por grupos bioisósteros con azufre, tales como SO₂H o SO₂NH₂. Con ello, además de una interferencia en la aparición de fenómenos de resistencia, la sustitución bioisósteras asegura cierta actividad antituberculosa para los compuestos preparados, y la participación del azufre en tales estructuras permite realizar, con extraordinaria facilidad, estudios de absorción, distribución y excreción, con los compuestos realmente útiles, bastando, a tal fin, el empleo de trazadores de ³⁵S.



Continuando esta dirección de trabajo, Martín Municio con Angulo ⁽⁸⁾ abordaron la síntesis del *análogo sulfónico de la isoniazida* (II), y de varias isonicotinosulfonamidas anfinas y, posteriormente, con Ribera ⁽⁹⁾ la de una serie de *isonicotinoilaminoácido-hidrazidas* (III) e-*hidrazonas* (IV), buscando la posibilidad de que los fármacos atraviesen barreras de muy diversos tipos y la de protegerlos de las múltiples transformaciones metabólicas a que necesariamente han de estar sometidos antes de alcanzar el lugar de su acción. La presencia de aminoácidos suele influir, en efecto, sobre el metabolismo de los compuestos y, desde luego, influye poderosamente sobre su toxicidad; además, cualquiera que sea el mecanismo exacto de la acción de estos agentes antituberculosos, los aminoácidos pueden jugar un importante papel.

Estas mismas ideas son las que sirven de base a un trabajo posterior de Municio y Angulo ⁽¹⁰⁾, relativo a la síntesis de *N-óxidos de piridin -4-sulfonamidas* JVI, -*sulfohidrazidas* y -*sulfolhidrazonas*. Cabe esperar, en efecto, que la función N-óxido altere las características de distribución electrónica de tales compuestos, tan íntimamente relacionados con su actividad biológica y, desde luego, disminuir su Toxicidad.

En otro orden de ideas, el criterio conjuntivo de reunir en una misma molécula diversos agrupamientos funcionales de reconocida actividad en la quimioterapia de la tuberculosis, ha sido considerado por nosotros con Madroño y Alonso ⁽¹¹⁾ al preparar varias *1-aroil-tiosemicarbazidas* (VI) y *1-aroil-2-(2-tiazolil)-hidrazinas* (VII).



Estos compuestos reúnen, además de los agrupamientos de hidrazida y de tiosemicarbazida, de significación tan especial en la quimioterapia del bacilo de Koch, los de tiourea e isotiourea, presentes en gran número de compuestos antituberculosos, y el anillo de tiazol que forma parte de algunos compuestos quimioterapéuticos de probada eficacia (sulfotiazol, penicilina, ácido actitiázico, etc.).

Con Madroño y Sunkel se han sintetizado series isósteras de los anteriores compuestos con la participación del azufre. Se trata de *1-arilsulfonil-tiosemicarbazidas* (VIII) y de *1-arilsulfonil-2-(2-tiazolil)hidrazinas* (IX), que con los mismos requisitos quimioterapéuticos anteriores de conjunción estructural, constituyen un puente de unión entre las dos direcciones fundamentales seguidas ⁽¹²⁾.

Todo ello ha permitido reunir más de 350 nuevos compuestos, cuya actividad antituberculosa *in vitro*, frente a una cepa de *M. tuberculosis* resistente a la estreptomycin, ha sido ya estudiada con la colaboración del

Departamento de Fermentaciones Industriales del Instituto de Química. La actividad de varios de ellos, verdaderamente prometedora, como ha sido publicado en el «Bulletin de la Société Chimique de France», y no repetimos aquí por la extensión que las Tablas correspondientes darían a este trabajo, exige un estudio más amplio que, en la actualidad se realiza *in vivo*, con la colaboración del Servicio Nacional de Enfermedades del Tórax.

Finalmente, muchos de los compuestos sintetizados poseen agrupamientos funcionales que permiten esperar una actividad antimicrobiana más amplia y, en muchos casos, incluso, acciones farmacológicas muy diversas. Varios de los compuestos, en efecto, son activos *in vitro* frente a diversos microorganismos patógenos (*S. aureus*, *K. Pneumoniae* etc.) y no patógenos; otros, si bien no inhiben el desarrollo de determinadas levaduras, ejerciendo más bien el efecto de comportarse como factores de crecimiento, pueden llegar a adquirir cierta significación práctica en la preparación de levaduras pienso. Finalmente, algunos de ellos poseen estructuras referibles a las de varios compuestos cocidiostáticos, protectores de radiación, diuréticos, antidiabéticos, etc., y ello exige un profundo estudio farmacológico de algunos compuestos representativos, que se inicia ahora con la colaboración del Prof. García de Valdecasas.

Psicofarmacología. Inhibidores de monoaminoxidasa

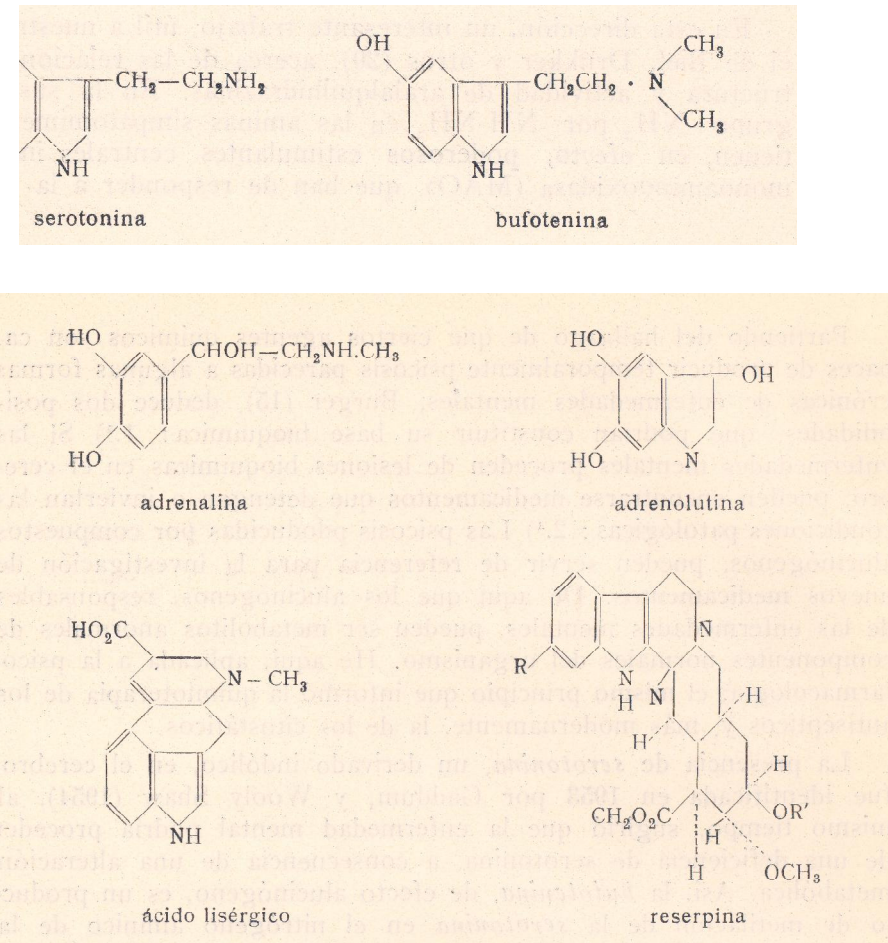
Data de dos mil años el tratamiento de los estados depresivos. Ya Hipócrates describió el cuadro clínico de la depresión, y el término «melancolía» tiene su origen en las teorías humorales de la enfermedad, consideradas por Hipócrates y Galeno como causadas por un exceso de «bilis negra». Ciertas drogas vegetales, el heléboro y el borrago, entre otras, se usaron durante muchas centurias como remedio a la depresión; pero la genuina farmacoterapia de la depresión es de uno treinta años a esta parte, con creciente atención e interés por parte de clínicos, químicos y farmacólogos, habida cuenta de la gran importancia médica y social de los trastornos que acarrea por la frecuencia con que, sin considerar los extremos a que puede conducir, son responsables de la pérdida de eficiencia y capacidad de trabajo en el sujeto, que aún puede hacer vida de comunidad aparentemente normal.

Se hace difícil una clasificación con criterio químico que relacione estructura y tipo de acción, porque matices y modalidades de ésta se solapan frecuentemente y, a pesar de que el Segundo Congreso Psiquiátrico Internacional, celebrado en Zurich en 1957, discutió una posible nomenclatura de los fármacos psicotropos conocidos hasta entonces De todos modos, para dar una visión de conjunto, que sitúe el tema y ayude a comprender el planteamiento de nuestra hipótesis de trabajo, es satisfactorio el cuadro de E. Jucker⁽¹³⁾, que relaciona grupos químicos y tipo de acción. En él, la reserpina, fenotiazina y tiaxantina, y sus análogos respectivos, forman el grupo de neurolépticos (tranquilizadores superiores), y algunos de éstos con los más recientes dibenzo-ciclo-eptadieno y dibenzo-ciclo-eptatrieno, constituyen los llamados trinolépticos o antidepresivos, de cuya acción participan, asimismo, con estructuras totalmente distintas, los derivados de hidrazina. Finalmente, como tranquilizantes menores figuran los derivados de alcoholes aromáticos como el meprobamato, relajantes del músculo central, y los del difenilmetano, de acción vegetativa. Gran número de estos medicamentos prueban resultados satisfactorios en porcentajes de casos no desdeñables; pero presentan efectos secundarios, no siempre tolerables y, en general, se muestran inferiores al tratamiento electroléptico en severas depresiones endógenas. Así opina Rees⁽¹⁴⁾, respecto de diversos tipos de drogas, como resumen de experiencias clínicas contrastadas en condiciones de efectiva comparación. Esto, no obstante, los resultados obtenidos son suficientemente estimulantes para

posteriores investigaciones en la búsqueda de nuevos medicamentos de mayor eficacia y menores efectos indeseables.

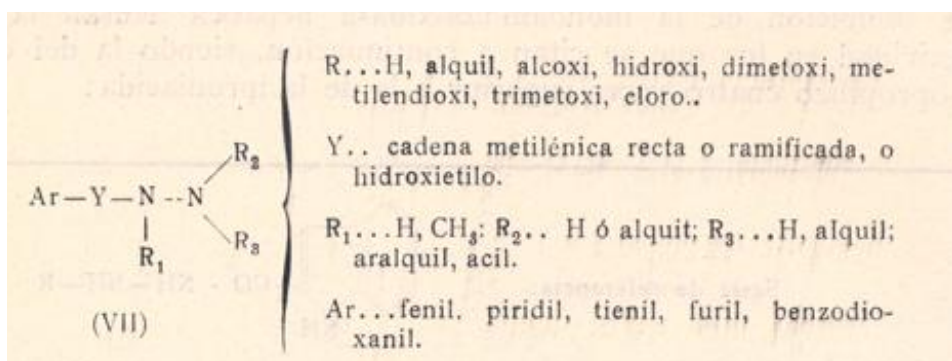
Partiendo del hallazgo de que ciertos agentes químicos son capaces de producir temporalmente psicosis parecidas a algunas formas crónicas de enfermedades mentales, Burger ⁽¹⁵⁾, deduce dos posibilidades, que podrían constituir su base bioquímica: 1.^a) Si las enfermedades mentales proceden de lesiones bioquímicas en el cerebro, pueden encontrarse medicamentos que detengan o inviertan las condiciones patológicas; 2.^a) Las psicosis producidas por compuestos alucinógenos, pueden servir de referencia para la investigación de nuevos medicamentos. De aquí que los alucinógenos, responsables de las enfermedades mentales, pueden ser metabolitos anormales de componentes normales del organismo. He aquí, aplicada a la psicofarmacología, el mismo principio que informó la quimioterapia de los antisépticos y, más modernamente, la de los citostáticos,

La presencia de *serotonina*, un derivado indólico, en el cerebro, fue identificada en 1958 por Gaddum, y Woolly Shaw (1954), al mismo tiempo, sugirió que la enfermedad mental podría proceder de una deficiencia de serotonina, a consecuencia de una alteración metabólica. Así, la *bufotenina*., de efecto alucinógeno, es un producto de metilación de la *serotonina* en el nitrógeno amínico de la cadena lateral ⁽¹⁶⁾. La *adrenolutina*, con un núcleo indólico, agente psicomimético, puede considerarse como un producto de ciclación de la adrenalina. También el *ácido lisérgico*, cuya dietilamida origina, por inhalación de mínimas cantidades, síntomas alucinógenos, posee un agrupamiento indólico, el que, a su vez, forma parte de la molécula compleja de *reserpina*, el alcaloide de la Rauwolfia, repertoriado entre los tranquilizantes de superior actividad. El núcleo indólico se nos ofrece, pues, como de especial significación, en esta dirección de la investigación farmacológica.

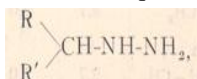


Por otra parte, con la introducción de la hidrazida del ácido isomcotínico en el tratamiento de la tuberculosis ⁽¹⁷⁾, se desarrolló la química de los derivados hidrazínicos y, entre ellos, fue preparado el isopropílico («isoproniacida», 1-isonicotinoil-2-isopropil-hidrazina), cuyo ensayo farmacológico demostró su excelente actividad antidepresiva ⁽¹⁸⁾. Zeller y colaboradores ⁽¹⁹⁾ probaron que la isoproniacida inhibe la acción de la monoaminooxidasa, enzima que interviene en el metabolismo de la serotonina, produciendo una elevación de su nivel en el cerebro. Este hecho estimuló las investigaciones de los derivados hidrazínicos como estimulantes centrales.

En esta dirección, un interesante trabajo, útil a nuestro objeto; es el de Biel, Drukker y otros ⁽²⁰⁾, acerca de las relaciones entre estructura y actividad de aralquilhidrazinas. En la sustitución del grupo $-NH_2$ por $-NH-NH_2$ en las aminas simpatomiméticas se obtienen, en efecto, poderosos estimulantes centrales inhibidores de monoaminooxidasa (MAO), que han de responder a la fórmula general (VIII), respecto de la que son revisables todos los casos de sustitución indicados.



El requerimiento para una acción estimulante eficaz parece ser el agrupamiento 1-fenil-2-propilo. Zeller, por su parte, define como inhibidores de monoaminooxidasa los derivados de hidracina que reúnen las siguientes condiciones:



1. Monoalquihidrazinas del tipo es decir, con un átomo de H, al menos en el de Carbono unido al Nitrogeno.

2. 1-Acil-2-alquihidrazinas. de tipo $\text{R} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{NH} \cdot \text{CHR}_2$

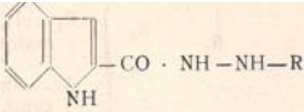
Los efectos secundarios de los derivados de hidrazina estudiados parecen disminuir, sin merma en su acción inhibidora de la monoaminooxidasa, transformándolos en derivados del ácido metanosulfónico ⁽²¹⁾, y así se han preparado con éxito los correspondientes al 2-hidrazin-propano y 1-feni-2-hidrazinopropano.

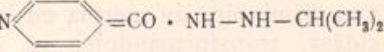
Tenemos, pues, como resumen de lo expuesto, los siguientes resultados a considerar: a) importancia del núcleo indólico en orden a posibles antimetabolitos; b) acción estimulante central de los derivados hidrazínicos; e) relación entre este carácter y su efecto inhibidor sobre la monoaminooxidasa. La conjugación de estos tres aspectos nos ha llevado a una dirección de trabajo consistente en la síntesis de derivados hidrazínicos de compuestos indólicos, así como a hidrazonas derivadas de aquéllos y, como primera aproximación en su potencial efectividad, al ensayo en cada caso de su acción inhibidora sobre la monoaminooxidasa.

Los inhibidores de aminooxidasa sintetizados con este criterio, en número de 40 hasta hoy, pertenecen a una serie de hidrazidas sustituidas del ácido indol-2-carboxílico, obtenidas por primera vez con excelente rendimiento por nuestro colaborador Eldiberto Fernández, a partir de la hidrazina sencilla. Asimismo, se ha iniciado una nueva serie de hidrazidas referible al ácido indol-3-acético; y de todos los compuestos examinados

hasta aquí de una y otra serie, los ensayos de inhibición de la monoaminooxidasa hepática acusan la mayor actividad en los que se citan a continuación, siendo la del derivado isopropílico cuatro veces superior a la de la iproniácida:

Serie de referencia:



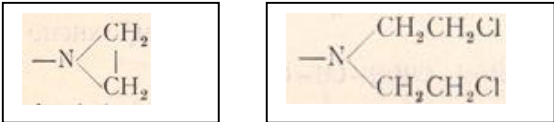
R	pI ₅₀	(I ₅₀)	Actividad respecto de Iproniácida
-CH ₂ -CH ₃	3,9	1,3 · 10 ⁻⁴	3
-(CH ₂) ₂ -CH ₃	3,7	2,0 · 10 ⁻⁴	2
-CH(CH ₃) ₂	4	10 ⁻⁴	4
-CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	2,7	2,0 · 10 ⁻³	2
<div> <div>Iproniácida: N-</div> <div> <div>3,4</div> <div>4 · 10⁻⁴</div> <div>1</div> </div> </div>			

La enzima utilizada se preparó a partir de hígado de ternera y las medidas manométricas se realizaron sobre un sustrato de clorhidrato de tiamina en un medio adecuado, al que se agrega el producto en ensayo. Los resultados de las medidas se llevan a diagramas, en los que se representan los porcentajes de inhibición frente a $pI = -\log(I)$. De ellos se obtiene en cada caso el valor de pI_{50} , que representa, a su vez, el logaritmo negativo de la concentración de inhibidor que produce por término medio una inhibición de 50 por 100, en las condiciones del ensayo. Así se ve, por ejemplo, que a un valor de $[I]_{50}$ de 4×10^{-4} corresponde en el derivado isopropílico de la hidrazida Indol-2-carboxílica, el de 10^{-4} , con la advertencia de que el error en las medidas no es superior a 0,1 por 100.

Las investigaciones continúan respecto de series homólogas distintas, con las variaciones a que conduzcan estos previos ensayos de actividad, para un mayor esclarecimiento de su relación con la estructura.

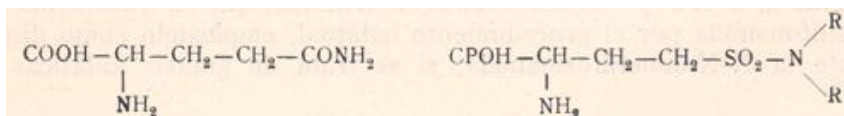
Antagonistas de glutamina

La química de la carcinogénesis y el conocimiento actual sobre la composición de la célula normal y patológica no están lo suficientemente avanzados para situar la quimioterapia de tumores y leucemia sobre una base puramente racional. Las hipótesis sobre la carcinogénesis, fundadas en las deficiencias en proteínas esenciales, en la acción de los distintos agentes sobre el ADN, en el cambio de la actividad enzimática del tumor o en el efecto de los elementos-traza, por sugestivas que se nos ofrecen, no alcanzan, desgraciadamente, suficiente efectividad. Parece, sin embargo, subsistir como buen criterio químico el de encontrar compuestos que interaccionan preferentemente con enzimas, con los grupos fosfóricos del ADN, con sustancias presentes en las membranas celulares o con estas distintas acciones combinadas. Toda la actual quimioterapia de los tumores es referible a *citostáticos* fundamentalmente, ya de grupo etilenimino , ya de



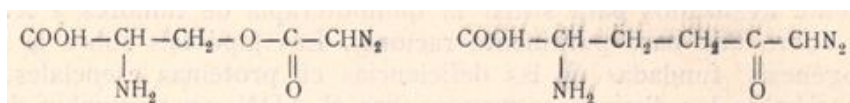
mostaza nitrogenada, hormonas, fundadas o no en el principio “transportform-wirkform”, aplicado con éxito a esteres fosfóricos del estilbeno y dietilestilbeno en el carcinoma de próstata y, los antimetabolitos, que han de actuar para ser eficientes como inhibidores enzimáticos irreversibles⁽²²⁾. Son éstos, como ya sabido, combinaciones que, introducidas “fraudentemente” en el sistema enzimático, en el lugar de otras consideradas necesarias para el crecimiento celular, impiden que los fermentos puedan cumplir su cometido, y producen la interrupción de aquel.

En este orden de investigaciones en el dominio de nuevos antimetabolitos de acción anticancerosa potencial, y siguiendo el criterio de la bioequivalencia, se ha dirigido el trabajo hacia la síntesis y experimentación ulterior de antagonista de la glutamina, iniciándolo por el caso más sencillo de sustitución isóptera, en la que el grupo de carboxiamida se reemplaza por el de sulfonamida:

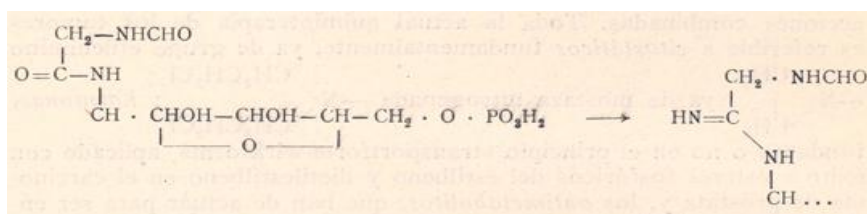


La glutamina participa en la biosíntesis de purinas, y por consiguiente, en el crecimiento celular, por su intervención en tres procesos fundamentales de transaminación.

Es conocida la acción anticancerosa de la “Azaserina”⁽²³⁾, (o-diazoacetil-L-serina) y el “Don” (6-diazo-5-oxo-L-norleucina), revelados como antagonistas de la glutamina



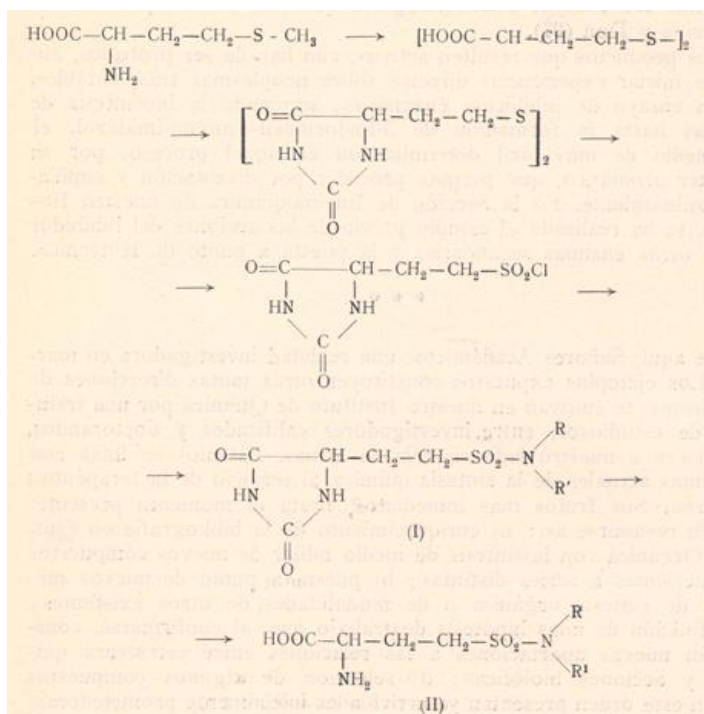
sin duda por la presencia del grupo alquilante diazoacético, que causaría inhibición irreversible de la enzima participante por alquilación del grupo pirofosfato, posiblemente en la fase de transformación del (α -N-formil)-glicinamida riborido (FGAR) en la amidina correspondiente (FGAM).⁽²⁴⁾



En esta misma línea, pero con características químicas diferentes, se encuentra el tipo de compuestos, cuyo estudio se inicia.

Llegar a él ha exigido la puesta a punto de una interesante y laboriosa vía de síntesis que han llevado a cabo Madroñero con García Muñoz y Del Río, a partir de homocistina, preparada, a su vez por: calefacción de la metionina⁽²⁵⁾. La ruptura de la unión disulfuro por tratamiento con cloro, que ha de originar el agrupamiento sulfónico, exige el bloqueo previo de los grupos amino y carboxilo, llevado a cabo por formación de la hidantoína correspondiente, por calefacción con cianato potásico en medio ácido. El tratamiento de aquélla con cloro, empleando solución de ácido acético a 42 por 100, origina la D-L-5-(β clorosulfoniletil)-hidantoína, que se transforma en la sulfonamida por el procedimiento habitual, empleando como disolvente la N-N-dimetilformamida, si se trata de aminas alifáticas o heterocíclicas saturadas, o piridina, si de aminas aromáticas. Finalmente, la hidrólisis de la

hidantoína con agua de barita en tubo cerrado a 160° C. deja en libertad el aminoácido.



Se han obtenido hasta aquí treinta nuevos compuestos entre hidantoínas (I) y α -aminoácidos (II), correspondientes a distintos radicales R_1 y R_2 , y referibles a aminas alifáticas sencillas, aminas aromáticas, aminas heterocíclicas e hidrazinas⁽²⁶⁾.

Sobre los productos obtenidos, y como primeras orientaciones, se llevan a cabo estudios en los sistemas:

«*Streptococcus faecalis*»-Tiamina.

«*Lacto bacillus casei*»- Riboflavina.

«*Escherichia coli*» en un medio de sales inorgánicas y glucosa

«*Candida albicans*»-tiamina

siguiendo los ensayos microbiológicos que han sido empleados con Azaserina y Don⁽²⁷⁾.

Los productos que resulten activos, aún han de ser probados, antes de iniciar experiencias directas sobre neoplasmas trasplantables, en un ensayo de inhibición enzimática, siguiendo la biosíntesis de purinas hasta la formación de 5-fosforibosil-4-amino-imidazol, el intermedio de más fácil determinación en aquel proceso, por su carácter aromático, que permite proceder por diazotación y copulación subsiguiente. En la Sección de Enzimoquímica de nuestro Instituto, se ha realizado el estudio previo de las acciones del inhibidor sobre otras enzimas secundarias y la puesta a punto de la técnica.

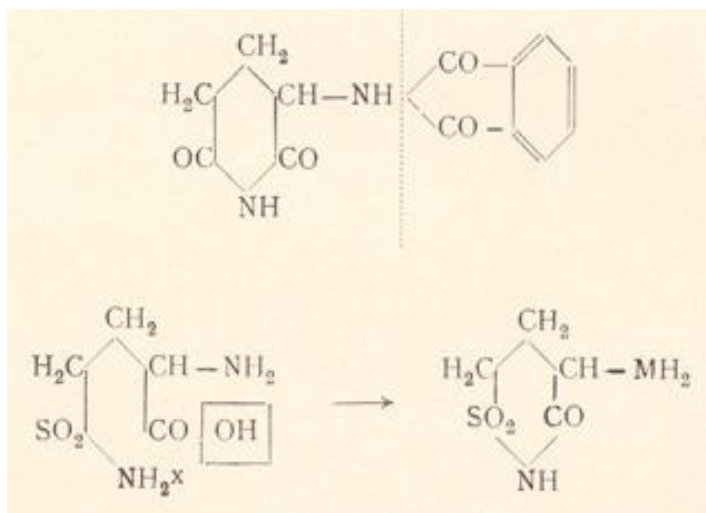
He aquí, Señores Académicos, una realidad investigadora en marcha. Los ejemplos expuestos constituyen otras tantas direcciones de trabajo que se cultivan en nuestro Instituto de Química por una treintena de estudiosas, entre investigadores calificados y doctorandos, que hacen a nuestro lado su vela de armas. Estamos en línea con los temas actuales de la síntesis química al servicio de la terapéutica moderna. Sus frutos más inmediatos, hasta el momento presente, pueden resumirse así: a) enriquecimiento de la bibliografía en Química Orgánica con la síntesis de medio millar de nuevos

compuestos pertenecientes a series distintas; b) puesta a punto de nuevos métodos de síntesis orgánica o de modalidades de otros existentes; c) definición de unas hipótesis de trabajo que, al confirmarse, constituirán nuevas aportaciones a las relaciones entre estructura química y acciones biológicas; d) selección de algunos compuestos que en este orden presentan ya actividades inicialmente prometedoras, y e) integración de unos equipos de investigación, preparados así para una eficiente labor en el vasto campo de la Química médica.

Una investigación de este carácter ha de ir seguida de unos estudios farmacológicos exhaustivos. Con independencia de la obligada comprobación de la hipótesis de trabajo que condujo al nuevo tipo de compuesto y, en cualquier caso, de su toxicidad, interesa ensayar con él, en un amplio espectro de acciones farmacológicas. Es bien sabido que, no obstante una dirección inicial inspiradora, la serie que se obtiene puede no responder a ella y ser, en cambio, eficaz en otro orden distinto de actividad terapéutica. Ante el nuevo compuesto se hace imprescindible ensayar todas sus posibilidades, no sólo por motivos de eficiencia, sino por conocer al propio tiempo acciones secundarias que han de ser tenidas en cuenta para su empleo.

Téngase presente que a un director de investigaciones no siempre se le plantea el tema en términos de allegar un recurso para una cierta enfermedad. Ocurre esto tan sólo en los grandes casos que inquietan gravemente a la humanidad; pero lo frecuente es que aquél se nos ofrezca entre los cuerpos que se obtienen por métodos de síntesis o por aislamiento como producto natural, y ello sólo se alcanza mediante una inteligente organización de ensayos farmacológicos consecutivos a la identificación de un nuevo tipo de compuestos o una nueva estructura orgánica.

Un ejemplo interesante de nuestra propia y reciente experiencia es de actualidad registrar aquí. Uno de los compuestos preparados en la serie antes citada de anticancerosos potenciales, se ha revelado como tranquilizante en unos primeros ensayos. Este carácter no excluye el que se busca, pero sí ofrece, en relación con la estructura, la atrayente particularidad de conducir, por ciclación, a un agrupamiento isótero del que puede dar carácter a la «talidomida», cuya posible acción anticancerosa se debate hoy.



Reitero con todo esto la necesidad ineludible de un complemento farmacológico a los trabajos de síntesis en el dominio de Química médica y, como consecuencia, el interés que ofrece el fomento de aquel orden de investigaciones. El plan de desarrollo francés lo considera así mismo cuando se refiere a la investigación médica, y entre nosotros se ha subrayado también la importancia de su fortalecimiento.

He sentido siempre la preocupación por el más completo aprovechamiento de

nuestros valores humanos y de nuestros medios de trabajo en la más conveniente adecuación funcional. Nuestra industria química de síntesis va a poder beneficiarse, con el desarrollo de la petroquímica, de una variedad de intermedios, de los que hoy dispone difícilmente, retardando con ello su evolución. Precisamente la síntesis de medicamentos alcanza, en todos los países, un elevado porcentaje de aquélla. Tenemos hoy ya, y tendremos, pues, en el futuro con más profusión, posibilidades materiales para iniciar una industria químico-farmacéutica propia. Yo os presento ahora, con la efectividad de una obra en marcha. el factor humano de esa potencial riqueza que puede iluminar el nuevo camino. El carácter, eminentemente competitivo, de esta industria no permite las asociaciones de investigación. Ya van existiendo entre nosotros, sin embargo. algunos grupos importantes que pueden, sin duda, tener investigación propia, pero que se beneficiarían largamente desde ahora" con el fomento y dilatación de estas investigaciones, por servirse de sus resultados, de una parte, y por favorecer, de otra, la formación de investigadores, llamados a nutrir los equipos científicos de una industria químico-farmacéutica que aspire a ser original.

Notas

- (1) F. MARTÍN PANIZO: "Las Ciencias", 17, 473, (1954).
- (2) C. A. DÁVILA, R. LAORGA, F. MARTÍN PANIZO y M. PINAR.: *Anales Real Soc. Española Fís. y Quím.*, 54 B, 459 (1958).
- (3) MARKER y col: *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 2620 (1940).
- (4) WALL Y col.: *Anal. Chem.*, 24, 1337 (1952).
- (5) C. A. DÁVILA Y F. MARTÍN PANIZO: "Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím.", 514 B, 697 (1958); R. LAORGA y M. PINAR: «Ibid.», 516 B, 797 (1960); F. MARTÍN PANIZO y M. PINAR: «Memorias del XXXII Congreso Internacional de Química Industrial, Barcelona, octubre» 1960.
- (6) F. MARTÍN PANIZO Y J. SCHNELL: *Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím.* » 57 B, 299 (1961).
- (7) L. AGUADO, M. LORA TAMAYO, A. M. MUNICIO y J. L. RUIZ: «Anales Real. Soc. Españ. Fís. y Quím. », 55 B, 523 (1959)
- (8) A. M. MUNICIO y J. ANGULO: «Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím.» 55 B, 527 (1959).
- (9) A. M. MUNICIO y A. RIBERA: «Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím.», 56 B, 303 (1960)
- (10) A.M. MUNICIO y J. ANGULO: «Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím. » 56 B, 395 (1959).
- (11) M. LORA TAMAYO, R. MADROÑERO Y G. ALONSO: «Bull. Soc. Chim. France» 1962, 1020; «Ibid.», 1962, 1024.
- (12) Resultados no publicados.
- (13) E. JUCKER, «Chimia», 15, 268 (1961); véase también «Acerca de las sustancias Psicotropas», discurso de ingreso en la Real Academia de Medicina de Barcelona del doctor Buscarons, 1962.
- (14) REES: «Nature», 186, 114 (1960).
- (15) BURGER: «Medicinal Chemistry», pág. 398 (1960).
- (16) BURGER: «Medicinal Chemistry», pág. 399 (1960).
- (17) DOMAGK, OFFE Y SIEFKEN: «Nature», 39, 118 (1952).
- (18) FOX Y CRIBAR: «J. Org. Chem. » 81, 994 (1953); LEMERE: "Amer. Med. Assoc. Arch. Neurol. Psychiatry», 71, 624 (1954).
- (19) ZELLER y col.: «Experientia», 8, 349 (1952).
- (20) BIEL, DRUKKERR y otros: «J. Am. Chem. Soc. », 81, 2805 (1959).
- (21) LOGEMANN: «Arzn.», 5, 213 (1955).
- (22) SCHRIEVER: «Deuts. Ap. Ztg.», 99, 203 (1959); BAKER: «Cancer Chemotherapy Reports», núm. 4.
- (23) STOCK, REILLY, BUCKLEY y otros: «Nature» 171, 71 (1954); WALD y MOORE: «Abst. Am. Chem. Soc. », 129ª Reunión (1956).
- (24) LEVENBERG, MELNICH y otros: «J. Biol. Chem. » 225, 163 (1957).
- (25) T. F. LAVINE, N. F. FLOYD: «J. Biol. Chem. », 207, 97 (1954).
- (26) Resultados no publicados
- (27) SCHABEL y R. F. PITTLLO: «Screening for and Biological Characterization of Antitumor Agents using Microorganisms», en «Advances in Applied Microbiology», vol. 3 cap. 8.

